

**UJI POTENSI *Bacillus* sp. DARI RIZOSFER TANAH KEBUN RAYA  
LIWA SEBAGAI PENGHASIL HORMON *INDOLE ACETIC ACID* (IAA)**

**(SKRIPSI)**

**Oleh**

**FADLINA ATHFIN  
NPM 1717021090**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

**UJI POTENSI *Bacillus* sp. DARI RIZOSFER TANAH KEBUN RAYA  
LIWA SEBAGAI PENGHASIL HORMON *INDOLE ACETIC ACID* (IAA)**

**Oleh**

**FADLINA ATHFIN**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2022**

## ABSTRAK

### UJI POTENSI *Bacillus* sp. DARI RIZOSFER TANAH KEBUN RAYA LIWA SEBAGAI PENGHASIL HORMON *INDOLE ACETIC ACID* (IAA)

Oleh

FADLINA ATHFIN

*Bacillus* sp. termasuk kelompok bakteri saprofit yang mampu hidup pada berbagai kondisi lingkungan, termasuk rizosfer. Rizosfer adalah zona yang dikelilingi oleh tanah dan dipengaruhi oleh akar tanaman. Rizosfer tanah Kebun Raya Liwa yang cukup baik berpotensi memungkinkan adanya populasi mikroorganisme rizosfer seperti kelompok *Bacillus* sp. *Bacillus* sp. asal rizosfer telah diketahui menghasilkan fitohormon yang berpotensi untuk membantu pertumbuhan dan perkembangan tanaman, salah satunya adalah hormon *Indole Acetic Acid* (IAA). *Bacillus* sp. asal rizosfer dari tanah Kebun Raya Liwa belum banyak dilaporkan bahwa dapat menghasilkan hormon IAA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. asal rizosfer dari tanah Kebun Rawa Liwa dalam menghasilkan hormon IAA. Penelitian ini termasuk eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Metode penelitian ini meliputi pembuatan media biakan bakteri, peremajaan isolasi bakteri, pembuatan kurva standar IAA, produksi hormon IAA dari isolat *Bacillus* sp. yang dilakukan dengan dua cara yaitu pengukuran kandungan IAA menggunakan triptofan dan tanpa menggunakan triptofan, kemudian analisis data menggunakan analisis anova untuk mengolah data yang didapatkan. Dari hasil penelitian didapatkan 10 isolat yang mampu menghasilkan hormon IAA dengan penambahan triptofan dan tanpa triptofan. Hasil produksi IAA tertinggi tanpa penambahan triptofan adalah isolat tanah biopori dengan kode isolat BP 5, dan isolat yang mampu menghasilkan IAA tertinggi dengan penambahan triptofan yaitu isolat dari tanah biopori dengan kode isolat BP 13.

**Kata Kunci :** *Bacillus* sp., Rizosfer, Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA).

## ABSTRACT

### POTENTIAL TEST *Bacillus* sp. FROM THE RIZOSPHERE OF KEBUN RAYA LIWA AS A PRODUCER OF THE INDOLE ACETIC ACID (IAA) HORMONE

By

FADLINA ATHFIN

*Bacillus* sp. including a group of saprophytic bacteria that are able to live in various environmental conditions, including the rhizosphere. The rhizosphere is the zone surrounded by soil and influenced by plant roots. The soil rhizosphere of Kebun Raya Liwa is quite good and has the potential to allow a population of rhizosphere microorganisms such as the *Bacillus* sp. *Bacillus* sp. The origin of the rhizosphere has been known to produce phytohormones that have the potential to help plant growth and development, one of which is hormones *Indole Acetic Acid* (IAA). *Bacillus* sp. the origin of the rhizosphere from the soil of Kebun Raya Liwa has not been widely reported that can produce IAA hormones. This study aims to determine the ability of *Bacillus* sp. the origin of the rhizosphere from Kebun Raya Liwa soil in producing the hormone IAA. This research is an experimental study using a completely randomized design (CRD). This research method includes the manufacture of bacterial culture media, rejuvenation of bacterial isolation, preparation of IAA standard curve, production of IAA hormone from *Bacillus* sp. which was carried out in two ways, namely measuring IAA content using tryptophan and without using tryptophan, then data analysis using anova analysis to process the data obtained. From the results of the study, 10 isolates were able to produce the hormone IAA with the addition of tryptophan and without tryptophan. The highest IAA production without the addition of tryptophan was biopore soil isolate with isolate code BP 5, and isolates capable of producing the highest IAA with the addition of tryptophan were isolates from biopore soil with isolate code BP 13.

**Keywords:** *Bacillus* sp., Rhizosphere, *Indole Acetic Acid* Hormone (IAA).

Judul Skripsi : **UJI POTENSI *Bacillus* sp. DARI RIZOSFER  
TANAH KEBUN RAYA LIWA SEBAGAI  
PENGHASIL HORMON *INDOLE ACETIC  
ACID* (IAA)**

Nama Mahasiswa : **Fadlina Athfin**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1717021090**

Jurusan / Program Studi : **Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. **Komisi Pembimbing**

  
**Dr. Kusuma Handayani, M.Si.**  
NIP 19780819 200801 2 018

  
**Wawan A. Setiawan, M.Si.**  
NIP 19791230 200812 1 001

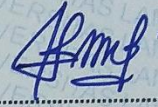
2. **Ketua Jurusan Biologi**

  
**Dr. Jani Master, M.Si.**  
NIP 19830131 200812 1 001

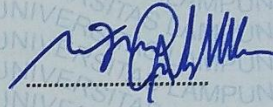
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

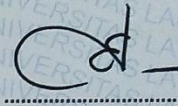
**Ketua Penguji : Dr. Kusuma Handayani, M.Si.**



**Anggota Penguji : Wawan A. Setiawan, M.Si.**



**Penguji Utama : Dra. C. Nugroho Ekowati, M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Dr. Eng. Surtpto Dwi Yuwono, M.T.**  
**NIP.19740705 200003 1 001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 09 Desember 2022**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fadlina Athfin  
NPM : 1717021090  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

**“UJI POTENSI *Bacillus* sp. DARI RIZOSFER TANAH KEBUN RAYA LIWA SEBAGAI PENGHASIL HORMON *INDOLE ACETIC ACID* (IAA)”**

adalah benar hasil dari penelitian dan karya saya sendiri baik data, hasil analisis, dan pembahasannya. Saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh hasil skripsi saya digunakan oleh dosen atau program studi untuk keperluan publikasi, selagi nama saya disebutkan.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan, jika dikemudian hari pernyataan saya ini tidak benar, maka saya bersedia dituntut secara akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 14 Februari 2023

atakan,  
  
METERAL TEMPEL  
B50BEAKX039689842

**Fadlina Athfin**  
NPM 1717021090

## RIWAYAT HIDUP



Fadlina Athfin lahir di Rawa Ragil, pada tanggal 20 November 1999. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 1 Rawa Ragil pada tahun 2005-2011. Penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Penawartama pada tahun 2011-2014. Setelah itu melanjutkan pendidikan menengah atas di MAN 1 Lampung Timur pada tahun 2014 - 2017.

Pada tahun 2017, penulis resmi terdaftar sebagai mahasiswa di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Penerimaan Mahasiswa Perluasan Akses Pendidikan (PMPAP). Selama menempuh pendidikan sarjana, penulis pernah menjadi Anggota Sains dan Teknologi di Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Universitas Lampung. Prestasi yang pernah diraih penulis selama menempuh pendidikan sarjana diantaranya juara 2 lomba cipta puisi tingkat nasional dalam kompetisi Gebyar Mahasiswa Pendidikan Eksakta (Gempita) 2018 dengan tema “Membentuk Generasi Milenial yang Bersinergis, Saintis dan Menginspirasi



untuk Membangun Indonesia Emas”, kemudian juara 3 Palestine Art pada acara Al-Wasi’i Quranic Festival (AQF) Competition 2018.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) pada bulan Januari - Februari 2020, dengan judul “Uji *Staphylococcus auerus* pada Sampel Kosmetik di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) di Bandar Lampung”.

Penulis juga melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada bulan Juli - Agustus 2020 di Desa Dwi Warga Tunggal Jaya, Kecamatan Banjar Agung, Kabupaten Tulang Bawang, Provinsi Lampung. Penulis mulai melaksanakan penelitian pada bulan Agustus - Desember 2021 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

## ***PERSEMBAHAN***

*Segala puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, maka saya persembahkan skripsi ini kepada:*

*Kedua orangtuaku tercinta, Bapak dan Ibu yang tak hentinya selalu memberikan kasih sayang, mendo'akan, memotivasi dan selalu memberikan dukungan baik moral maupun material.*

*Adik-adikku yang selalu mendukung dan memberikan semangat serta selalu menghibur selama perjalanan hidupku hingga menyelesaikan pendidikan ini.*

*Para guru dan dosen yang telah mendidik dan memberi motivasi hingga hari ini dengan dedikasi dan keikhlasannya.*

*Sahabat-sahabatku dan teman-teman seperjuangan yang selalu memberikan semangat*

*Almamaterku Tercinta*

## MOTTO

Pain is part of growing  
Everything in life is temporary  
Worrying and complaining changes nothing  
Your scars are symbols of your strength  
Every little struggle is a step forward  
Other peoples negativity is not your problem  
What's meant to be will eventually be  
And the best thing you can do is always keep going

“Don't talk to people you don't want to talk to, and don't talk about stuff you don't want to talk about.”- Austin Kleon

“If you look to artist who've managed to achieve lifelong careers, you detect the same pattern: They all have been able to perservere, regardless of success or failure.”- Austin Kleon

“Indeed after hardship comes ease.”- QS. Al-Insyirah: 5-6.

“Every soul will taste death.”- QS. Al-Imran; 185.

In fact, the life of this world is just a game and fun.”-QS. Muhammad: 36.

## SANWACANA

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

*Alhamdulillah robbil 'alamin.* Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Potensi *Bacillus* Sp. dari Rizosfer Tanah Kebun Raya Liwa Sebagai Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA)”** sebagai salah satu syarat menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis menyadari bahwa banyak dukungan, bimbingan serta bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua, bapak dan ibu yang senantiasa mencurahkan cinta dan kasih, memberikan doa sepanjang hayat;
2. Adik-adikku tersayang yang selalu memberi semangat dan menghibur penulis dalam kondisi apapun;
3. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M. T. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung;
4. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung;
5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S. Si., M. Si. selaku Kepala Program Studi S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung sekaligus Pembimbing I yang telah memberikan topik penelitian, arahan dalam penulisan, dan pendanaan selama penelitian;

6. Bapak Wawan A. Setiawan, M. Si. selaku Pembimbing II yang telah memberikan arahan dalam penulisan dan pelaksanaan penelitian;
7. Ibu Dra. C. N. Ekowati, M.Si. selaku Pembahas yang telah memberikan saran dalam pelaksanaan dan penulisan laporan akhir skripsi ini;
8. Bapak Tugiyono, P. hD. selaku pembimbing akademik yang senantiasa membimbing penulis dalam perkuliahan;
9. Sahabatku dan teman-temanku selama masa perkuliahan Rizka Ananda Putri, Mauli Maro Hidayat, Indah Stellawati, Alfin Cantika, Alvin Wiwiet Susanto. *I have to tell you, thank you anyway;*
10. Seseorang yang telah menjadi rumah untuk segala keluh kesah selama menyelesaikan skripsi ini, Dimas Riyadi;
11. Sahabatku since 2011, Ressa Saputri yang selalu memberikan dukungan dan semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini;
12. Suciani Miftahul Jannah, Ria Novita, Indriani, Lisa Maryati, dan Vidia Royanti selaku tim *BKS Squad* yang telah berjuang bersama, selalu memberikan semangat, saling membantu dan mengingatkan. *You only fail, when you stop trying guys!*
13. Ibu Oni Mastuti S.Si sebagai Laboran Mikrobiologi yang telah membantu dan memberikan semangat dalam penelitian;
14. Kak Nafila, yang telah membantu dan memberikan arahan selama penelitian di UPT LTSIT Unila;
15. Orang-orang yang selalu bertanya “*Gimana progres skripsinya? Kapan wisuda?*”, terima kasih telah memotivasi hingga saya mampu bertahan sampai detik ini;
16. Semua teman-teman Biologi angkatan 2017 yang berjuang bersama dan telah menciptakan warna-warni dunia perkuliahan. *See you on top guys!*
17. *Last but not least, I wanna thank me for believing in me.* Terima kasih telah terlihat baik-baik saja meski disforia. Terima kasih karena sudah hebat melawan hari-hari yang berat. *You can be anything you want.*

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi sedikit harapan semoga Allah SWT memberikan

balasan pahala yang terbaik bagi pihak yang telah membantu dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

*Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

Bandar Lampung, Februari 2023

**Fadlina Athfin**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xi</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	3
1.3. Kerangka Pemikiran .....	3
1.4. Hipotesis .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1. <i>Bacillus</i> sp. ....	5
2.1.1. Klasifikasi <i>Bacillus</i> sp. ....	5
2.1.2. Morfologi <i>Bacillus</i> sp. ....	6
2.2. Rizosfer .....	8
2.3. Hormon IAA .....	10
2.4. Triptofan sebagai Perkusor IAA .....	17
2.5. Kebun Raya Liwa .....	18
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
3.2. Alat dan Bahan Penelitian .....	20
3.3. Metodologi Penelitian .....	21

3.4. Prosedur Kerja .....	21
3.4.1. Pembuatan Medium <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	21
3.4.2. Pengukuran pH Tanah Sampel.....	22
3.4.3. Peremajaan Isolat <i>Bacillus</i> sp. ....	22
3.4.4. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel <i>Bacillus</i> sp .....	23
a. Pengamatan Makroskopis .....	23
b. Pengamatan Makroskopis.....	23
3.4.5. Pembuatan Kurva Standar IAA .....	23
3.4.6. Analisis Kandungan IAA yang Dihasilkan dari Isolat <i>Bacillus</i> sp.	
3.4.6.1. Analisis Kandungan IAA tanpa Penambahan Tryptofan.....	24
3.4.6.2. Analisis Kandungan IAA dengan Penambahan Tryptofan.....	25
3.5 Diagram Alir .....	27
3.6 Analisis Data .....	28
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
4.1. Hasil Penelitian .....	29
4.1.1. pH Tanah dan Kemampuan Bakteri dalam Menghasilkan IAA .....	29
4.1.2. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel <i>Bacillus</i> sp.....	31
a. Karakteristik Morfologi Makroskopik.....	31
b. Karakteristik Morfologi Mikroskopik .....	32
4.1.3. Kurva Standar <i>Indole-3-Acetic Acid</i> (IAA) .....	32
4.1.4. Penentuan Konsentrasi <i>Indole-3-Acetic Acid</i> .....	33
4.2. Pembahasan .....	36
<b>V. PENUTUP .....</b>	<b>46</b>
5.1 Kesimpulan .....	46
5.2 Saran .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>



<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>55</b>
Tabel 8-13 .....	56-61
Gambar 12-14.....	62-63

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. pH Sampel Tanah dan Isolat yang Mampu Menghasilkan Hormon IAA dari Kebun Raya Liwa.....	29
2. Morfologi Koloni .....	31
3. Hasil Pengecatan Gram dan Pengecatan Spora.....	32
4. Hasil Pengukuran Spektrofotometer Kurva Standar IAA Sintetik .....	33
5. Hasil Analisis Produksi <i>One Way</i> Anova Rata-Rata Indeks IAA tanpa Triptofan.....	35
6. Hasil Analisis <i>One Way</i> Anova Rata-Rata Indeks IAA dengan Penambahan Triptofan .....	35
7. Hasil Analisis BNT Rata-Rata Konsentrasi IAA dengan Penambahan Triptofan .....	36
8. Hasil Spektro Sampel Uji Produksi <i>Bacillus</i> sp tanpa Penambahan Triptofan dalam Menghasilkan IAA.....	56
9. Hasil Uji Produksi Konsentrasi Kandungan IAA tanpa Penambahan Triptofan .....	56
10. Anova: <i>Single Factor</i> IAA tanpa Triptofan .....	58
11. Hasil Spektro Sampel Uji Produksi <i>Bacillus</i> sp. dengan Penambahan Triptofan dalam Menghasilkan IAA .....	59

12. Hasil Uji Produksi Konsentrasi Kandungan IAA dengan Penambahan Triptofan .....	59
13. Anova: <i>Single Factor</i> dengan Penambahan Triptofan .....	61

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jalur Biosintesis IAA (Danapriatna, 2014) .....	12
2. Biosintesis IAA pada jalur <i>tryptophan- independent</i> (Ouyang <i>et al.</i> , 1999).....	14
3. Biosintesis jalur asam shikimat .....	15
4. Konversi chorismate menjadi anthranilat (Ziebart <i>et al.</i> , 2010). .....	16
5. Peta Kebun Raya Liwa (Bidang Pengembangan Kawasan Konservasi Tumbuhan Ex Situ Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya LIPI, 2016) .....	19
6. Diagram alir penelitian.....	27
7. Supernatan kultur <i>Bacillus</i> sp. yang mampu menghasilkan IAA tanpa penambahan triptofan .....	30
8. Kurva standar IAA sintetik .....	33
9. Diagram hasil produksi IAA .....	34
10. Hasil pewarnaan Gram <i>Bacillus</i> sp. perbesaran 1000x .....	38
11. Hasil pewarnaan spora <i>Bacillus</i> sp. perbesaran 1000x .....	39
12. Hasil reaksi IAA sintetik dengan reagen Salkowski berdasarkan konsentrasi 20 µl (1 ppm), 100 µl (5 ppm), 200 µl (10 ppm), 300 µl (15 ppm), 400 µl (20 ppm) dan 900 µl (45 ppm).....	62

13. Media uji produksi *Bacillus* sp. dengan penambahan triptofan dalam menghasilkan IAA..... 62
14. Hasil penelitian uji produksi *Bacillus* sp. dengan penambahan triptofan dalam menghasilkan IAA. .... 63

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

*Bacillus* termasuk kelompok bakteri saprofit yang memiliki endospora dan berfungsi sebagai pertahanan sel, hal tersebut merupakan keunikan yang dimiliki *Bacillus* sehingga mampu hidup pada berbagai kondisi lingkungan (Wiyada, 2012). *Bacillus* sp. dapat menghasilkan fitohormon yang berpotensi untuk mengembangkan sistem pertanian. Secara tidak langsung fitohormon dari bakteri menghambat aktivitas patogen pada tanaman, sedangkan pengaruh secara langsung fitohormon tersebut adalah meningkatkan pertumbuhan tanaman dan dapat bertindak sebagai fasilitator dalam penyerapan beberapa unsur hara dari lingkungan.

Kebun Raya Liwa memiliki area seluas 86,7 Ha yang difokuskan pada koleksi tumbuhan hias Indonesia dan perwakilan dari flora Sumatra bagian selatan. Dengan kata lain, Kebun Raya Liwa adalah sumber bagi kekayaan tumbuhan di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan. Tema tumbuhan hias yang diusung Kebun Raya Liwa diharapkan mampu mendorong perekonomian masyarakat di sekitarnya melalui kegiatan pemberdayaan masyarakat berbasis pendayagunaan jenis-jenis tumbuhan hias Indonesia. Untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman tersebut dibutuhkan hormon IAA. Hormon IAA dapat dihasilkan dari bakteri yang dapat memacu pertumbuhan tanaman, salah satunya yaitu *Bacillus* sp. sebagai bakteri penghasil hormon IAA. Kondisi tanah Kebun Raya Liwa yang bervariasi

serta didukung oleh kondisi iklim seperti curah hujan tahunan yang cukup tinggi dengan kelembaban relatif, mampu menjaga kondisi tanahnya cukup baik, sehingga area rizosfer Kebun Raya Liwa berpotensi adanya populasi mikroorganisme rizosfer seperti kelompok bakteri *Bacillus* sp. yang tersebar pada rhizosfer Kebun Raya Liwa. Keberadaan bakteri rizosfer seperti *Bacillus* sp. berperan dalam perbaikan pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) yang menghasilkan zat pemacu tumbuh, memfiksasi nitrogen, memobilisasi fosfat dan berperan dalam kesehatan tanaman.

Mikroorganisme penghuni rizosfer tanaman memanfaatkan eksudat tanaman (substrat) untuk mensintesis dan melepaskan auksin sebagai metabolit sekunder (Ljung, 2013). Marista *et.al* (2013) menyatakan, sebagian besar bakteri yang ditemukan hasil isolasi dari rizosfer tanaman mampu mensintesis IAA, salah satunya *Bacillus* sp. Menurut Rahni (2012) Rizobakteria dikenal sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) merupakan kelompok bakteri menguntungkan yang secara aktif mengkolonisasi rizosfer. Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Royanti (2022) telah diketahui bahwa terdapat isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer tanah Kebun Raya Liwa yang menghasilkan hormon IAA yaitu isolat dengan kode TBA 7, BP 14, dan BP 16, sedangkan menurut penelitian Sanjaya (2022) telah diketahui bahwa terdapat 4 isolat *Bacillus* sp. yang menghasilkan hormon IAA yaitu sampel dengan kode DT 3, SH 1, DT 2, dan BP 1.

Berdasarkan uraian di atas dan mengingat potensi *Bacillus* sp. sebagai penghasil hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) yang berperan dalam pertumbuhan serta perkembangan tanaman, maka dilakukan penelitian tentang Uji Potensi *Bacillus* sp. dari Rizosfer Tanah Kebun Raya Liwa Sebagai Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA).

## 1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. dari rizosfer tanah Kebun Rawa Liwa dalam menghasilkan hormon IAA.

## 1.3. Kerangka Pemikiran

Bakteri *Bacillus* sp. asal rizosfer mampu menghasilkan hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) yang berpotensi memacu perkembangan dan pertumbuhan tanaman. Telah diketahui dari penelitian terkait bahwa isolat *Bacillus* sp. berpotensi mampu dalam menghasilkan hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) tanpa menggunakan triptofan sebagai prekursor pada media pertumbuhannya walaupun dalam jumlah sedikit (Asril, 2017).

Kondisi tanah Kebun Raya Liwa yang cukup baik memungkinkan adanya keberadaan populasi mikroorganisme rizosfer. Area rizosfer Kebun Raya Liwa sudah dilakukan uji dan berhasil diketahui adanya kelompok bakteri *Bacillus* sp. yang tersebar pada tanah Kebun Raya Liwa.

Berdasarkan studi literatur terkait kemampuan *Bacillus* sp. asal rizosfer dalam menghasilkan hormon IAA, diperkirakan bahwa *Bacillus* sp. asal rizosfer Kebun Raya Liwa juga berpotensi menghasilkan hormon IAA (*Indole Acetic Acid*). Untuk itu, maka perlu dilakukan penelitian ini untuk mengetahui potensi *Bacillus* sp. dari rizosfer Kebun Raya Liwa sebagai penghasil hormon *Indole Acetic Acid* (IAA).



#### 1.4. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu terdapat bakteri *Bacillus* sp. asal rizosfer tanah Kebun Raya Liwa yang menghasilkan hormon IAA (*Indole Acetic Acid*).

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Bacillus* sp.

#### 2.1.1 . Klasifikasi *Bacillus* sp.

*Bacillus* sp. merupakan genus bakteri dari famili Bacillaceae, termasuk ke dalam filum Firmicutes, dan memiliki lebih dari 200 spesies yang telah teridentifikasi (Shu and Yang, 2017). Pada Oktober 2012 terdapat 260 spesies *Bacillus* yang tercatat pada daftar shunama prokariotik yang berada di dalam nomenklatur serta terdapat lebih dari 116 spesies yang tercantum dalam versi terbaru dari “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” (Cote *et al.*, 2015). Berikut klasifikasi *Bacillus* spp. berdasarkan “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” Edisi ke-2 (2004).

Klasifikasi *Bacillus* spp.

Kingdom : Bacteriac

Filum : Firmicuter

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Familly : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus* spp.

### 2.1.2. Morfologi *Bacillus* sp.

Berdasarkan morfologi mikroskopik, *Bacillus* memiliki bentuk sel batang (rod) dan sifat Gram positif. Ukuran sel *Bacillus* berkisar 0,5-2,5  $\mu\text{m} \times$  1,2-10  $\mu\text{m}$  dan sering berpasangan membentuk rantai dengan ujung bundar atau persegi (Napitupulu *et al.*, 2019). *Bacillus* termasuk bakteri yang mampu bergerak (motil) dengan adanya flagel tipe peritrikus. *Bacillus subtilis* dapat mensintesis sebanyak 20 tubuh basal flagella dan letaknya tidak acak pada permukaan sel, tersusun simetris di sekitar *midcell*, dan bukan pada kutub (Guttenplan *et al.*, 2013).

Hasil uji pewarnaan Gram menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. merupakan bakteri Gram positif karena bakteri tersebut berwarna ungu setelah dilakukan pewarnaan Gram. Warna ungu yang dihasilkan pada pewarnaan tersebut dikarenakan dinding sel *Bacillus* sp. mampu mempertahankan zat warna kristal violet (Aini *et al.*, 2013).

Sel *Bacillus* sp. bersifat aerob atau anaerob fakultatif serta heterotrof, katalase positif, sel gerak yang membentuk endospora elips lebih tahan daripada sel vegetatif terhadap panas, kering dan faktor lingkungan lain yang merusak. Permukaan sel bakteri ditumbuhi merata flagellum peritrikus. *B. subtilis* merupakan kelompok fisiologi yang berbeda dari bakteri non-patogen, yang relatif mudah dimanipulasi secara genetika dan sederhana dibiakkan, yang memperkuat kesesuaiannya untuk kepentingan industri (Soesanto, 2008).

Bakteri *Bacillus* sp. memiliki kemampuan dalam menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti IAA. Penemuan tersebut sangat penting karena pertumbuhan tanaman membutuhkan faktor pertumbuhan yang lain salah satunya adalah zat pengatur tumbuh. IAA termasuk

fitohormon golongan auksin alami dan berperan sebagai zat pemacu pertumbuhan tanaman (Jumadi *et al.*, 2015).

Di dalam tanah, bakteri antagonis *B. subtilis* memanfaatkan eksudat akar dan bahan tanaman mati untuk sumber nutrisinya. Apabila kondisi tidak sesuai bagi pertumbuhannya, misalnya karena suhu tinggi, tekanan fisik dan kimia, atau kahat nutrisi, bakteri akan membentuk endospora. Endospora yang dihasilkan oleh *Bacillus* mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap faktor kimia dan fisika, seperti suhu ekstrim, alkohol dan sebagainya. Pembentukan endospora terjadi selama lebih kurang 8 jam dan dapat bertahan selama 6 tahun (Soesanto, 2008).

Bakteri *B. subtilis* juga efektif dalam melarutkan fosfat. Fosfat dapat menjadi tersedia untuk perakaran melalui sekresi asam organik mikroorganisme. Pada pH netral dan basa yang memiliki kandungan kalsium yang tinggi, terjadi pengendapan kalsium fosfat, sehingga mikroorganisme mampu melarutkan fosfat dan mengubahnya menjadi tersedia dan mudah diserap bagi tanaman (Avivi *et al.*, 2010).

Salah satu jenis *Bacillus* sp. yang sering digunakan dalam industri pangan maupun non-pangan yaitu spesies *Bacillus subtilis* (Soeka dan sulistiani, 2014). *Bacillus* sp. dapat menghasilkan fitohormon yang berpotensi untuk mengembangkan sistem pertanian berkelanjutan. Secara tidak langsung fitohormon dari bakteri menghambat aktivitas patogen pada tanaman, sedangkan pengaruh secara langsung fitohormon tersebut adalah meningkatkan pertumbuhan tanaman dan dapat bertindak sebagai fasilitator dalam penyerapan beberapa unsur hara dari lingkungan (Sari, 2015).

Bakteri penghasil IAA mempunyai potensi untuk bergabung dengan beberapa fisiologis tanaman dengan cara memasukkan IAA yang dihasilkannya ke dalam tanaman, dan tanaman tersebut akan lebih

sensitif dan mengubah konsentrasi IAA yang dimilikinya. Akar misalnya merupakan salah satu organ yang paling sensitif terhadap fluktuasi IAA serta bertanggung jawab dalam meningkatkan jumlah IAA eksogen yang berguna bagi proses elongasi akar primer, pembentukan akar lateral dan akar adventif (Leveau and Lindow, 2004).

## 2.2. Rizosfer

Rizosfer adalah tanah di sekitar akar tanaman yang secara langsung dipengaruhi oleh mikroba tanah dan eksudasi perakaran tanaman (Sukmadi, 2012). Rizosfer merupakan bagian tanah yang berada di sekitar perakaran tanaman dan berperan sebagai pertahanan luar bagi tanaman terhadap serangan patogen akar (Simatupang, 2008). Menurut Susilowati (2015) bagian rizosfer dikenal juga penting untuk kesehatan tanaman dan kesuburan tanah.

Mikroba yang berada pada zona rizosfer mempunyai kemampuan untuk membentuk mantel di daerah perakaran dan meningkatkan kemampuan tanaman dalam memanfaatkan hara. Peran mikrobia rhizosfer tersebut sebagai pemacu pertumbuhan tanaman atau *Plant Growth Promoting Rhizospheric Microorganism* (PGPRM) (Munif dan Awaludin, 2011). Faktor-faktor yang mempengaruhi komposisi komunitas mikroba rizosfer antara lain; jenis tanah, tahap pertumbuhan, praktek pertanaman, sejarah penggunaan lahan, dan faktor lingkungan lainnya (Doi, 2011).

Rizosfer dicirikan dengan aktivitas biologinya yang paling tinggi pada tanah (Patkowska, 2002). Lingkungan rizosfer total ditentukan oleh interaksi dari tanah, tanaman, dan organisme yang berasosiasi dengan akar. Hubungan

antara organisme dan akar dapat menguntungkan, merusak, atau netral tetapi seiring pengaruhnya tergantung pada kondisi tanah (Adawiyah, 2016).

Menurut Akbari *et al.*, (2007) beberapa mikroba rizosfer dapat memberikan efek menguntungkan bagi pertumbuhan tanaman. Tanaman menarik mikroba menguntungkan di daerah rizosfer dengan cara mengeluarkan eksudat akar yang berperan sebagai sumber nutrisi bagi mikroba, sedangkan mikroba mengeluarkan metabolit berupa senyawa-senyawa aktif (salah satunya fitohormon) yang digunakan oleh tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Adanya eksudat akar tersebut yang menyebabkan populasi mikroba di daerah rizosfer jauh lebih tinggi daripada di tanah biasa.

Populasi mikroorganisme di rizosfer umumnya lebih banyak dan beragam dibandingkan dengan tanah nonrizosfer (Niswati *et al.*, 2008). Aktivitas mikroorganisme rizosfer dipengaruhi oleh eksudat yang dihasilkan oleh perakaran tanaman. Beberapa mikroorganisme rizosfer berperan dalam siklus hara dan proses pembentukan tanah, pertumbuhan tanaman, memengaruhi aktivitas mikroorganisme, serta sebagai pengendali hayati terhadap patogen akar (Simatupang, 2008).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman yang adalah dengan melakukan aplikasi bakteri rizosfer yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan salah satunya adalah bakteri *Bacillus* sp. Keberadaan bakteri rhizosfer berperan dalam perbaikan pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) yang menghasilkan zat pemacu tumbuh, memfiksasi nitrogen, memobilisasi fosfat dan berperan dalam kesehatan tanaman. PGPR adalah kelompok bakteri tanah yang memiliki kemampuan untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman secara langsung dan tidak langsung (Verma *et al.*, 2010).

### 2.3. Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*)

*Indole Acetic Acid* (IAA) atau dikenal dengan hormon auksin merupakan anggota utama dari kelompok auksin yang mengendalikan banyak proses fisiologis penting termasuk pembesaran dan pembelahan sel, diferensiasi jaringan dan respon terhadap cahaya serta gravitasi (Kholida dan Zulaika, 2015). Menurut Dwiati (2016), hormon auksin banyak ditemukan di bagian akar, ujung batang dan bunga. Fungsi hormon auksin ialah mengatur proses pembesaran sel dan memacu proses pemanjangan sel di daerah meristem sub-apikal. Auksin dapat meningkatkan tekanan osmotik, permeabilitas sel, mengurangi tekanan pada dinding sel, meningkatkan plastisitas dan mengembangkan dinding sel serta meningkatkan sintesis protein. Hormon auksin (IAA) dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu IAA endogen dan eksogen (Astriani, 2015).

IAA merupakan bentuk auksin yang aktif secara biologis yang diatur didalam tanaman melalui interaksi beberapa jalur yang melibatkan biosintesis, oksidasi dan hidrolisis IAA, serta pengikatan IAA ke makromolekul seperti karbohidrat dan asam amino (Felten *et al.*, 2012). Adanya lima jalur biosintesis IAA yang berbeda telah diteliti dengan triptofan (Trp) sebagai precursor. Lima jalur tersebut ialah *indole-3-piruvat* (IpyA), *indole-3-asetamida* (IAM), triptamin (TAM), *indole-3-asetonitril* (IAN) dan jalur Trp cincin samping oksidase (Szkop dan Bielawski, 2013).

Auksin terbagi menjadi beberapa jenis antara lain : *Indole Acetic Acid* (IAA), *Indole Butyric Acid* (IBA),  $\alpha$  *Naphtaleneacetic Acid* (NAA), dan *2,4-dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D). Auksin yang dihasilkan didalam tumbuhan disebut endogenous, di dalam tumbuhan IAA diproduksi dalam jaringan meristematik yang aktif, misalnya dihasilkan pada tunas apikal dan ujung akar. Sedangkan jenis auksin IBA dan NAA merupakan auksin sintesis (Arimarsetiowati dan Ardiyani, 2012)

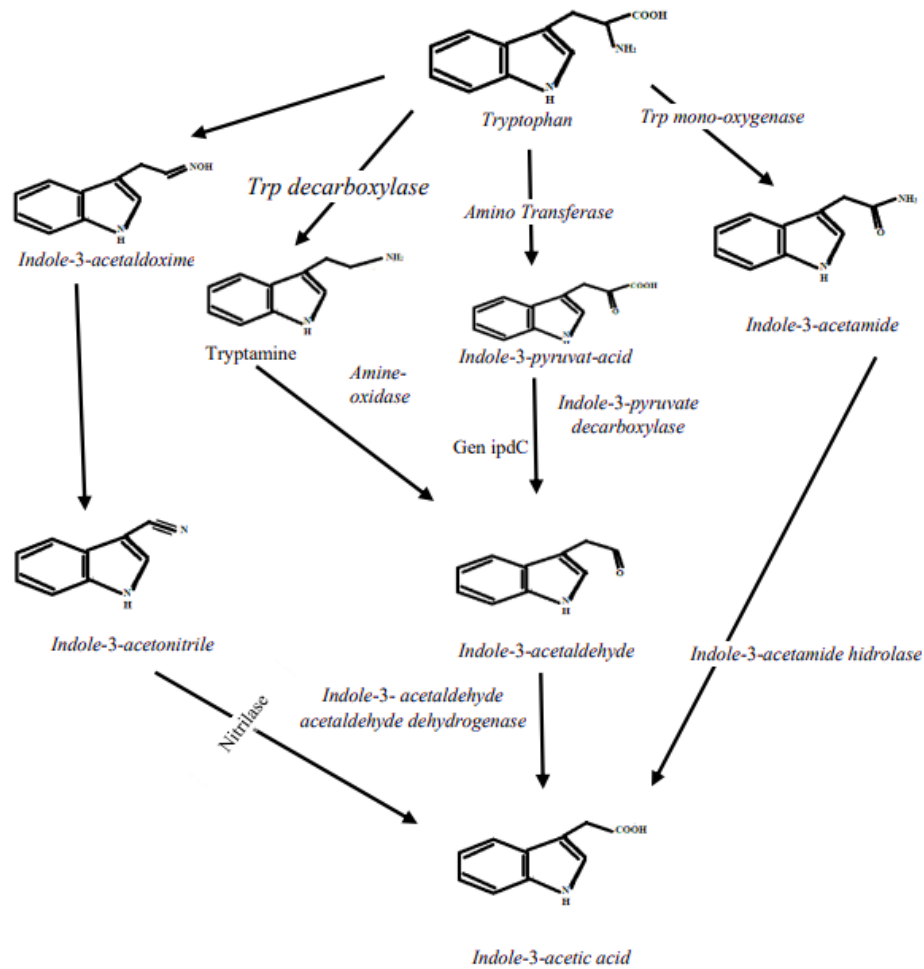
Hormon IAA dapat menghasilkan lebih banyak akar lateral, rambut akar, dan cabang rambut akar. Eksudat akar merupakan sumber alami triptofan untuk mikroorganisme rizhosfer yang dapat meningkatkan produksi IAA di daerah rizosfer. Biosintesis IAA dalam tanah dapat dipacu dengan adanya triptofan yang berasal dari eksudat akar atau sel-sel yang rusak atau membusuk (Chaiharn dan Lumyong, 2011).

Produksi IAA yang rendah dari bakteri dapat merangsang pemanjangan akar primer, sedangkan jumlah IAA yang tinggi dapat meningkatkan pembentukan akar lateral dan adventif akan tetapi menghambat pertumbuhan akar primer (Ngoma *et al.*, 2014). Produksi IAA oleh bakteri yang berasal dari rhizosfer diinduksi oleh berbagai konsentrasi triptofan. Konsentrasi IAA pada kultur bakteri yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan triptofan umumnya lebih tinggi dibandingkan dengan kultur yang ditumbuhkan pada media tanpa triptofan (Firdausi, 2018).

Beberapa spesies bakteri yang berasal dari perakaran dan tanah dapat berperan sebagai pestisida, fungisida, biofertilizer, dan memiliki kemampuan dalam memacu pertumbuhan tanaman (Madigan *et al.*, 2012). Selain itu, mampu memproduksi *Indole Acetic Acid* (IAA), mampu melarutkan fosfat dan sebagai agen biokontrol dengan menginduksi sistem kekebalan tanaman (Marista *et al.*, 2013). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) mampu menghasilkan zat pengatur tumbuh atau fitohormon. Kemampuan bakteri untuk menghasilkan zat fitohormon yang merupakan mekanisme penting pada PGPR. Senyawa ini berperan sebagai sinyal dan regulator pertumbuhan pada tanaman seperti *Indole Acetic Acid* (IAA), giberelin dan sitokinin (Harca, 2015).

Menurut Spaepen *et al.*, (2007) hormon IAA disintesis dengan beberapa jalur oleh bakteri, diantaranya indole-3-pyruvate, indole-3-acetonitril (IAN), tryptamine, dan indole-3-acetamide.





Gambar 1. Jalur biosintesis IAA (Danapriatna, 2014).

Gambar 1. dapat dijelaskan sebagai berikut:

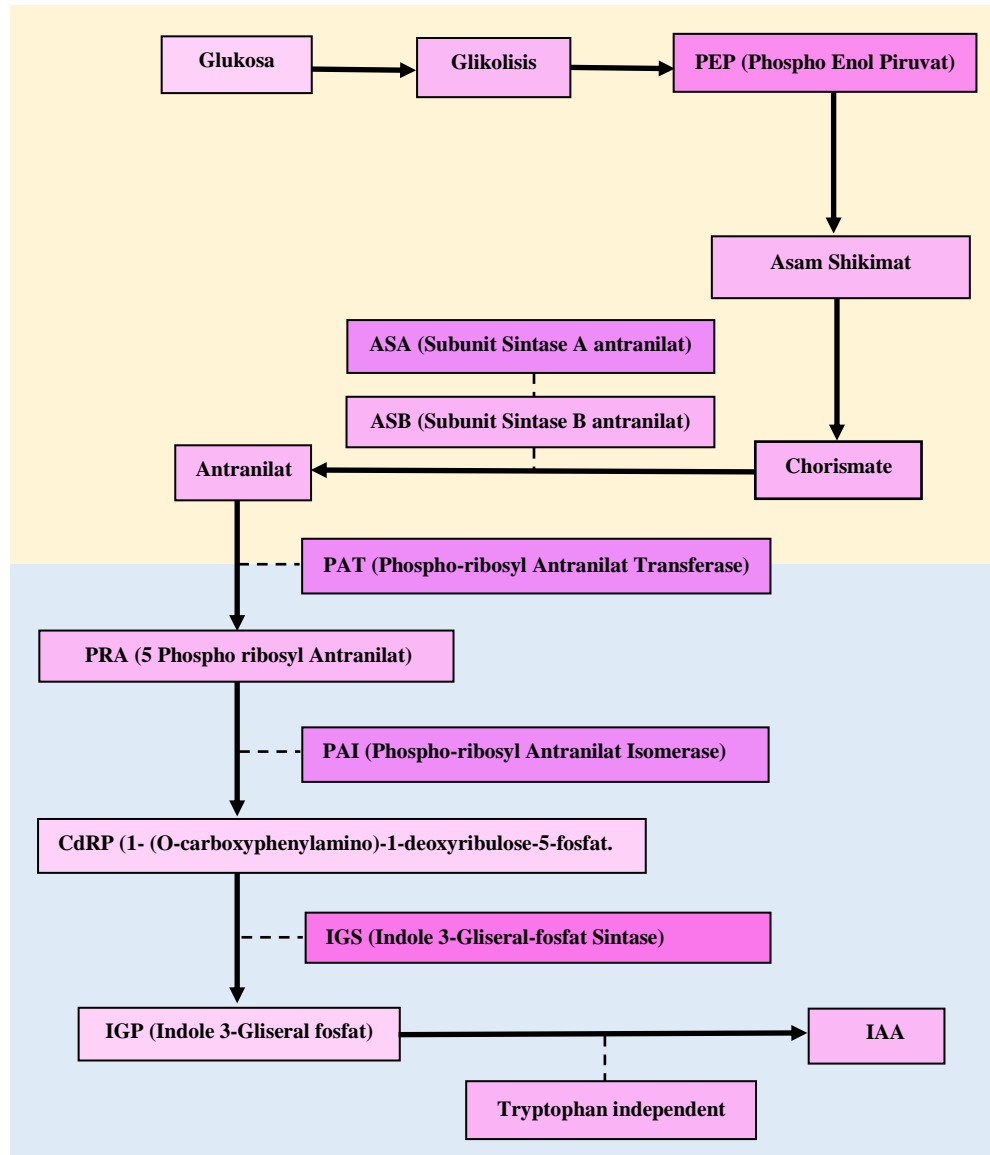
1. Jalur *indole-3-acetamide* (IAM) merupakan jalur yang memiliki 2 tahap, tahap pertama triptofan diubah menjadi IAM oleh enzim *triptofan-2-monooxygenase* (IaaM), yang dikode oleh gen *iaaM*. Kemudian dilanjutkan oleh enzim *IAM hydrolase* (IaaH) yang mengkonversi IAM menjadi IAA yang dikode oleh gen *iaaH*.
2. Jalur *indole-3-pyruvate* (IPyA) merupakan jalur yang utama dalam biosintesis IAA dalam tumbuhan. Jalur ini juga terjadi pada bakteri, dengan melalui beberapa tahap. Pada tahap yang pertama *triptofan* diubah menjadi IPyA oleh enzim *aminotransferase* (*ipdC transamination*), yang kemudian dilanjutkan oleh enzim *indole-3-pyruvate decarboxylase* sehingga IPyA mengalami dekarboksilasi dan

menjadi *indole-3-acetaldehyde* (IAAid). Proses yang terakhir terjadi oksidasi pada IAAid menjadi IAA.

3. Jalur *tryptamine* yang dilakukan oleh bakteri yaitu dengan mengubah *triptofan* menjadi *tryptamine* (TAM) melalui proses dekarboksilasi yang kemudian dilanjutkan dengan mengkonversi TAM menjadi IAA oleh enzim *amine oxidase*.
4. Tahap yang terakhir yaitu melalui jalur *indole-3-acetonitril*. Jalur ini mengkonversi IAN menjadi produk akhir IAA. Pada bakteri aktivitas *nitrile hydratase* dan *amidase* yang teridentifikasi menjelaskan bahwa terjadi proses konversi IAN menjadi IAA melalui IAM.

Pada jalur sintesis IAA tanpa penambahan triptofan, IAA akan disintesis melalui *indole-3-gliserolfosfat*, namun belum ada enzim yang dikarakterisasi pada jalur *tryptophan-independent* ini (Sapapen *et al.*, 2007).

Kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA dipengaruhi oleh spesies. Tidak semua bakteri dari spesies yang sama mampu menghasilkan IAA dengan kadar yang sama (Wulandari *et al.*, 2019). Selain jenis isolat, kadar IAA juga dipengaruhi oleh keberadaan triptofan didalam media. Secara umum, terdapat tiga mekanisme pembentukan IAA yaitu (1) Triptofan diubah menjadi asam *indolpiruvat* melalui reaksi transmisi, (2) asam *indolpiruvat* kemudian diubah menjadi *indolasetaldehida* melalui reaksi dekarboksilasi, dan (3) tahap akhir adalah oksidasi *indolasetaldehida* menghasilkan asam *indolasetat* (IAA). Triptofan mengalami dekarboksilasi menjadi triptamin, kemudian triptamin dioksidasi dan dideaminisasi untuk menghasilkan *indolasetaldehida*. Molekul tersebut akan mengalami oksidasi lebih lanjut untuk menghasilkan asam indol-asetat. Sedangkan jalur pembentukan IAA apabila tanpa adanya triptofan maka akan melalui jalur *tryptophan-independent* (Spaepen *et al.*, 2009). Biosintesis IAA pada jalur *tryptophan-independent* disajikan pada Gambar 2.

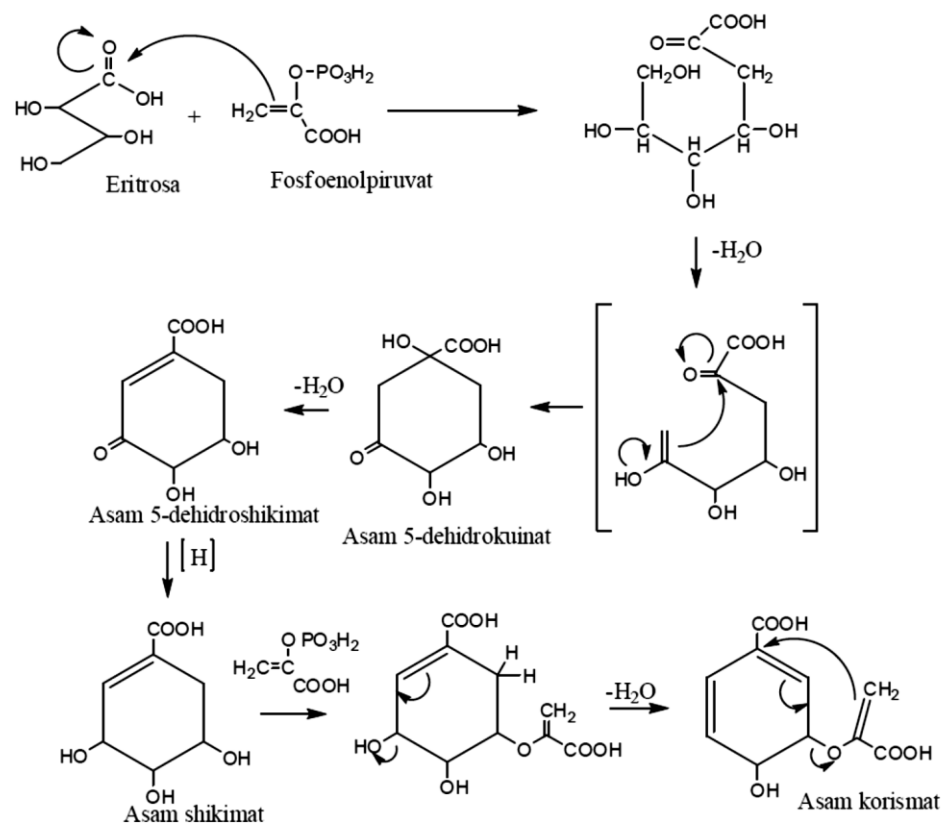


Gambar 2. Biosintesis IAA pada jalur *tryptophan-independent* (Ouyang *et al.*, 1999).

Gambar 2. dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. Media *Nutrient Broth* (NB) mengandung sumber karbon dan nitrogen supaya dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Komposisi *Nutrient Broth* terdiri dari *beef extract*, *yeast extract*, senyawa karbon kompleks seperti (glukosa), sodium chloride, dan pepton sebagai sumber nitrogen. Pada tahap pembentukan IAA jalur *tryptophan independent* bermula dari glukosa yang terkandung pada media *Nutrient Broth* (NB) mengalami glikolisis, kemudian diubah menjadi PEP.

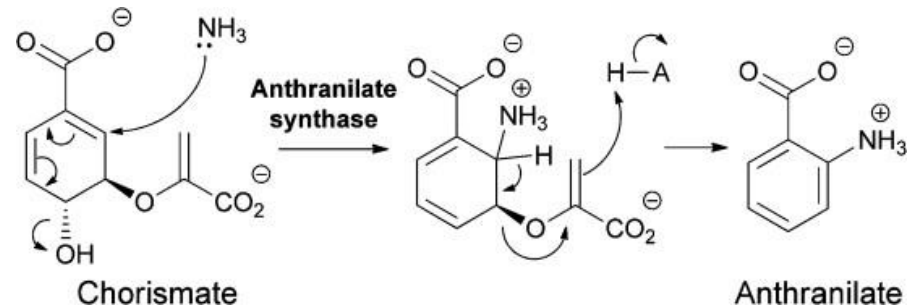
2. Pada jalur PEP diubah menjadi asam shikimat. Pembentukan asam shikimat diawali dengan kondensasi aldol antara eritrosa dan asam phospho-enol-piruvat. Pada kondensasi ini, gugus metilen  $C=CH_2$  dari asam phospho-enol-piruvat berlaku sebagai nukleofil dan mengadisi gugus karbonil  $C=O$  eritrosa, menghasilkan gula dengan 7 unit atom karbon. Selanjutnya reaksi menghasilkan asam 5-dehidrokuinat yang mempunyai lingkaran sikloheksana, yang kemudian diubah menjadi asam shikimat.



Gambar 3. Biosintesis jalur asam shikimat.

3. Asam shikimat diubah menjadi chorismite, lalu dilanjutkan oleh ASA (subunit sintase A antranilat) dan ASB (subunit sintase B antranilat), yang mengubah chorismate menjadi antranilat. Pada antranilat ini memiliki senyawa N dikarenakan pada antranilat sintase menggunakan substrat yang berupa amonia (berasal dari pepton yang terkandung pada media). Amonia tersebut bertindak sebagai nukleofil substitusi yang

menghasilkan aminodeoxyisochorismate, lalu mengalami aromatisasi dengan hilangnya unsur piruvat dalam situs aktif enzim.



Gambar 4. Konversi chorismate menjadi anthranilat (Ziebart *et al.*, 2010).

4. Dilanjutkan oleh phosphoribosyl antranilate transferase (PAT) yang mengubah antranilat menjadi (PRA) 5- phosphoribosyl -anthranilat.
5. Selanjutnya diubah oleh *phosphoribosyl-anthranilat* (PAI) kemudian menjadi CdRP, *1- (O-carboxyphenylamino)-1-deoxyribulose-5-fosfat*.
6. Dilanjutkan dengan bantuan IGS (*sintase indole-3-gliserol fosfat*) CdRP diubah menjadi IGP (*indole-3-gliserol fosfat*).

Telah diketahui dari penelitian sebelumnya, bahwa isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer mampu memproduksi IAA (*Indole Acetic Acid*), sehingga dapat meningkatkan bobot basah akar, melarutkan fosfat dan sebagai agen biokontrol dengan menginduksi sistem kekebalan tanaman (Marista *et al.*, 2013). Menurut Acuna *et al.*, (2011) isolat *Bacillus* sp. mampu memproduksi IAA (*Indole Acetic Acid*) tanpa menggunakan tryptophan sebagai prekursor melalui jalur *tryptophan-independent*.

IAA merupakan hormon yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Bakteri rhizosfer *Bacillus* sp. sebagai agen biokontrol pemacu pertumbuhan dapat meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menghasilkan fitohormon IAA yang dapat dikembangkan menjadi agen biologis yang nantinya dapat disintesis oleh bakteri tertentu sehingga meningkatkan pertumbuhan tanaman (Herlina *et al.*, 2016).

#### 2.4. Triptofan sebagai Prekursor IAA

Triptofan berasal dari eksudat akar atau sel-sel yang rusak. Auksin disintesis dari asam amino dengan prekursor triptofan dan dibantu oleh enzim IAA oksidase, hasilnya adalah IAN (*indole-3-acetonitril*), TpyA (*Asam Indol Piruvat*) dan IAAld (*indole-3-acetaldehyde*) suatu substansi yang mirip dengan auksin namun mempunyai aktifitas yang lebih kecil. Melalui reaksi deaminasi, dekarboksilasi, dan reaksi hidrolisis triptofan dapat berubah menjadi IAA. Reaksi deaminasi mengubah triptofan menjadi TpyA dengan bantuan enzim multispesifik aminotransferase, dilanjutkan dengan reaksi dekarboksilasi secara enzimatik yaitu mengubah TpyA menjadi IAAld dan reaksi hidrolisis IAAld menjadi IAA dengan bantuan enzim IAAld oksidase (Ahemad dan Kibret, 2014).

Triptofan secara fisiologis merupakan prekursor biosintesis auksin pada tumbuhan tingkat tinggi dan mikroorganisme. Eksudat akar merupakan sumber utama triptofan di dalam tanah. Triptofan yang ada di rizosfer memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan akar tanaman serta hasil panen. Triptofan adalah prekursor produksi IAA di tanaman dan mikroorganisme. Media produksi yang ditambahkan triptofan dan direaksikan dengan reagen Salkowski menghasilkan warna merah muda hingga merah, menunjukkan jumlah IAA yang dihasilkan berbeda-beda setiap isolat, sehingga dapat disimpulkan bahwa produksi auksin tergantung pada karakteristik fenotip mikroorganisme, pertumbuhan bakteri, aktivasi metabolik, ekspresi gen yang mengkode enzim pada proses biosintesis IAA, konstanta sintetik dan media pertumbuhan bakteri (Etesami *et al.*, 2009).

## 2.5. Kebun Raya Liwa

Pembangunan Kebun Raya Liwa diawali dengan penyusunan rencana induk (*masterplan*) pada tahun 2007. Setelah itu pembangunan dilanjutkan dengan pemaparan dan diskusi rencana induk pada 20 November 2008 di Aula Pemerintahan Kabupaten Lampung Barat. Penyusunan rencana induk ini merupakan kerjasama tiga pihak (*tripartite*) yang melibatkan Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), dalam hal ini Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya LIPI-Bogor; Kementerian Pekerjaan Umum (PU); Pemerintah Kabupaten Lampung Barat. Peraturan ini kemudian dikuatkan dengan Peraturan Bupati Lampung Barat Nomor 26 Tahun 2010 tentang Pembentukan Kebun Raya Liwa.

Kebun Raya Liwa merupakan kebun raya pertama yang dibangun di Provinsi Lampung dengan luas wilayah 86,68 Ha. Kebun Raya Liwa terletak di Pekon Kubu Perahu Kecamatan Balik Bukit Kabupaten Lampung Barat, Provinsi Lampung. Berdasarkan letak astronominya, Kebun Raya Liwa terletak pada titik koordinat geografis  $05^{\circ} 02' 36.6''$  LS-  $05^{\circ} 01' 45.2''$  LS dan  $104^{\circ} 04' 00.1''$  BT -  $104^{\circ} 04' 45.9''$  BT. Sebelah barat Kebun Raya Liwa, berbatasan dengan ekowisata Kubu Perahu Resort Balik Bukit, Taman Nasional Bukit Barisan Selatan (TNBBS) dengan objek wisata berupa Air Terjun Sepapah. Kebun Raya Liwa berjarak  $\pm 1$  Km dari Pusat Kota Liwa dan berjarak  $\pm 3$  Km dari Pusat Pemerintahan Kabupaten Lampung Barat. Dari Ibukota Provinsi Lampung, Kebun Raya Liwa berjarak 296 Km dengan waktu tempuh 5–6 jam. Sarana transportasi yang dapat digunakan dari ibukota provinsi di Bandar Lampung.



Gambar 5. Peta Kebun Raya Liwa (Bidang Pengembangan Kawasan Konservasi Tumbuhan Ex Situ Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya LIPI, 2016).

Kawasan Kebun Raya Liwa terletak pada ketinggian 890-948 mdpl. Titik terendah 830 mdpl terletak dibagian selatan barat Kebun Raya Liwa di sepanjang aliran Sungai Sinda Lapai dan titik tertinggi 945 mdpl terletak di sekitar zona altitudial, dengan lereng curam yaitu >40%. Topografi di area Kebun Raya Liwa landai dan berbukit-bukit. Kondisi iklim Kebun Raya Liwa meliputi curah hujan tahunan rata-rata 2500-3000 mm, bulan basah berlangsung 7 hingga 9 bulan, kisaran suhu lingkungan 17-30 °C, kelembaban relatif 50-80%, dan intensitas cahaya matahari sebesar 37,9%.



### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu cawan Petridish Pyrex, Erlenmeyer, tabung reaksi Pyrex, tabung reaksi tutup ulir Hach, jarum ose, bunsen, volumetri, mikropipet, mikrotip, oven Heraeus, mikroskop, *shaker incubator* Seiwa Rico Co., LTD EFM-60, autoklaf ALP KT-30LDP, *colony counter*, hot plate-magnetic stirrer Gr Herb 791, *laminar air flow* ESCO Airstream BSC, rak tabung, kulkas, gelas ukur, pH meter, vortex mixer Maxi mix II, botol semprot, *sentrifuge* Fischer Scientific, neraca digital US Solid, *beaker glass*, UV-Visible spektrofotometer Cary 100 Conc, plastik wrap, *aluminium foil*, korek api, dan label.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu sampel tanah tegakan Kebun Raya Liwa, aquades, alkohol, *Natrium Agar* Merck, *Natrium Borth* Merck, *L-tryptophan* Soho Nootropics, IAA Merck,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , cat Gram, cat spora,

metanol, dan spiritus.

### **3.3. Metodologi Penelitian**

Analisis hormon IAA isolat bakteri yang tumbuh pada media, digunakan metode kualitatif yaitu dengan cara ditetesi larutan Salkowski. Kemampuan isolat dalam menghasilkan hormon IAA dengan parameter perubahan warna sampel pada tahap identifikasi mengindikasikan terjadinya suatu reaksi pada bakteri. Perubahan warna sampel menjadi merah muda yang mengindikasikan isolat menghasilkan IAA tersebut ditandai dengan simbol (+). Percobaan untuk analisis IAA secara kuantitatif dilakukan menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang masing-masing variabelnya dengan penambahan triptofan dan tanpa penambahan triptofan pada media NB. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Densitas optik diukur absorbansi suspensi isolat menggunakan spektrofotometer yang menyatakan konsentrasi IAA yang dihasilkan, lalu dibandingkan dengan kurva standar IAA. Kemudian dilakukan analisis anova untuk mengolah data yang didapatkan. Jika berbeda nyata masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

### **3.4. Prosedur Kerja**

#### **3.4.1. Pembuatan Medium *Nutrient Agar* (NA)**

Proses pembuatan medium *Nutrient Agar* (NA) dapat dilakukan dengan cara media ditimbang sebanyak 1,4 gram, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambah aquadest 500 ml.

Kemudian Erlenmeyer ditutup menggunakan plastik wrap dan alumunium foil, lalu dihomogenkan menggunakan hotplate stirer. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf selama  $\pm 30$  menit, lalu larutan dituang ke dalam Petridish.

### **3.4.2. Pengukuran pH Tanah Sampel**

Tanah sampel diukur pHnya dengan cara 1 gram sampel disuspensikan dengan akuades netral 9 mL. Suspensi tanah yang sudah dibuat kemudian diukur pHnya dengan menggunakan kertas pH Universal.

### **3.4.3. Peremajaan Isolat *Bacillus* sp.**

Peremajaan biakan *Bacillus* sp. dilakukan dengan cara masing-masing kultur *Bacillus* sp. dalam media NA diambil 1 ose kemudian diinokulasikan ke dalam media NA pada cawan Petri yang telah padat menggunakan metode *streak plate*. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

### **3.4.4. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel *Bacillus* sp.**

#### **a. Pengamatan Makroskopis**

Pengamatan ini dilakukan dengan mengamati koloni bakteri yang terbentuk dalam media. Morfologi koloni yang diamati antara lain meliputi elevasi, warna koloni, bentuk, dan tepi koloni.

#### **b. Pengamatan mikroskopis**

Pengamatan secara mikroskopis pengecatan Gram dan pengecatan spora. Pengecatan Gram ini berfungsi untuk mengetahui sifat Gram pada isolat bakteri. Pengecatan spora berfungsi untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghasilkan spora (Cappucino dan Sherman, 2008).

### **3.4.5. Pembuatan Kurva Standar IAA**

Pembuatan kurva standar IAA berdasarkan metode Pattern dan Glick (2002) yaitu menggunakan 50 mL metanol yang telah dilarutkan 2,5 mg IAA (konsentrasi 50 ppm). Larutan standar IAA dimasukkan ke dalam tabung reaksi menggunakan mikropipet masing-masing 20  $\mu$ l (1 ppm), 100  $\mu$ l (5 ppm), 200  $\mu$ l (10 ppm), 300  $\mu$ l (15 ppm), 400  $\mu$ l (20 ppm) hingga 900  $\mu$ l (45 ppm). Ditambahkan metanol sehingga volume masing-masing tabung reaksi menjadi 1000  $\mu$ l, kemudian

ditambahkan sebanyak 4 mL reagen Salkowski pada masing-masing tabung reaksi lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang. Setelah itu absorbansi larutan standar diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm, kemudian kurva larutan standar IAA dibuat menggunakan hasil spektrofotometri yang menunjukkan hubungan antara larutan standar IAA (x) dan absorbansinya (y).

#### **3.4.6. Analisis Kandungan IAA yang dihasilkan dari Isolat *Bacillus* sp.**

Analisis kandungan produksi hormon IAA dari isolat *Bacillus* sp. dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Metode kualitatif yaitu dengan cara ditetesi larutan Salkowski, sedangkan analisis metode kuantitatif menggunakan spektrofotometer terhadap IAA yang dihasilkan.

Produksi hormon IAA juga dilakukan dengan dua cara, yaitu bakteri ditumbuhkan tanpa penambahan triptofan dan dengan penambahan triptofan.

##### **3.4.6.1. Analisis Kandungan IAA tanpa Penambahan Triptofan**

1. Satu lup ose dari isolat bakteri dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisikan 10 mL NB steril, kemudian dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 6 hari dengan suhu ruang hingga isolat bakteri tumbuh pada media.

2. Diambil masing-masing 5 mL NB yang telah ditumbui isolat bakteri menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam tabung.
3. Isolat kemudian disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 7000 rpm.
4. Diambil 1 mL supernatan yang diperoleh dan ditambahkan dengan 4 mL reagen Salkowski (150 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 250 mL aquades steril dan 7,5 mL FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O 0,5 M) dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
5. Supernatan diinkubasi pada ruangan gelap selama 1 jam kemudian diamati perubahan warna yang terjadi.
6. Perubahan warna sampel menjadi merah muda setelah diinkubasi mengindikasikan bahwa isolat mampu menghasilkan IAA.
7. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm.
8. Konsentrasi IAA dihitung dengan rumus substitusi nilai absorbansi sampel kedalam persamaan linear  $Y = a + b x$  dari kurva standar IAA dengan panjang gelombang 520 nm.

#### **3.4.6.2. Analisis Kandungan IAA dengan Penambahan Triptofan**

Pengukuran *Indole Acetic Acid* dilakukan dengan metode Pattern dan Glick (2002) dan Fatma (2014) yang telah dimodifikasi sebagai berikut:

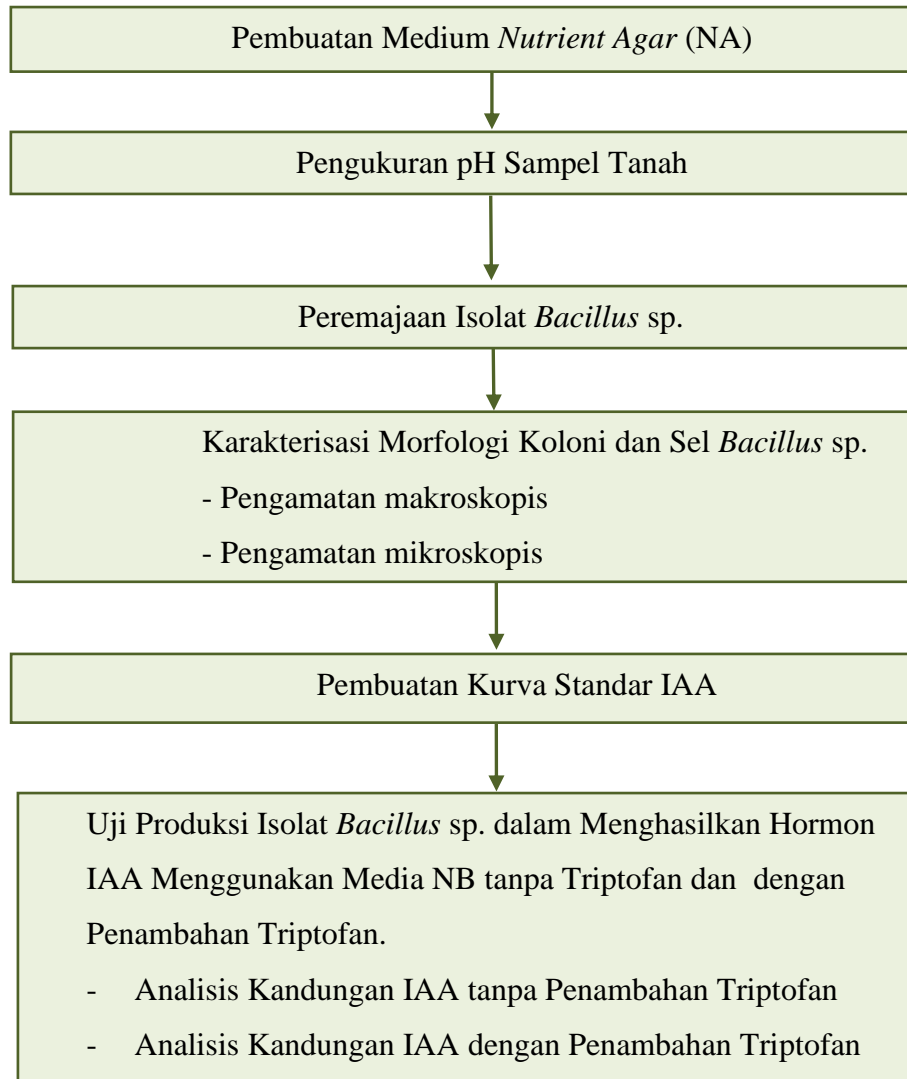
1. Satu lup ose dari isolat bakteri dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisikan 10 mL NB steril dengan penambahan triptofan sebanyak 0,01 gram, kemudian

dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 6 hari dengan suhu ruang hingga isolat bakteri tumbuh pada media.

2. Diambil masing-masing 5 mL NB yang telah ditumbuhi isolat bakteri menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam tabung.
3. Isolat kemudian disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 7000 rpm.
4. Diambil 1 mL supernatan yang diperoleh dan ditambahkan dengan 4 mL reagen Salkowski (150 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 250 mL aquades steril dan 7,5 mL  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0,5 M) dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
5. Supernatan diinkubasi pada ruangan gelap selama 1 jam kemudian diamati perubahan warna yang terjadi.
6. Perubahan warna sampel menjadi merah muda setelah diinkubasi mengindikasikan bahwa isolat mampu menghasilkan IAA.
7. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm.
8. Konsentrasi IAA dihitung dengan rumus substitusi nilai absorbansi sampel kedalam persamaan linear  $\mathbf{Y = a + b x}$  dari kurva standar IAA dengan panjang gelombang 520 nm.

### 3.5. Diagram Alir Penelitian

Tahapan penelitian ini dijelaskan melalui diagram alir sebagai berikut:



Gambar 6. Diagram alir penelitian.



### **3.6. Analisis Data**

Analisis data dilakukan secara deskriptif dan analisis anova untuk mengolah data yang didapatkan. Kemudian jika berbeda nyata masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa diperoleh 10 isolat yang mampu menghasilkan hormon *Indole Acetic Acid* baik tanpa penambahan maupun dengan penambahan triptofan. Hasil produksi IAA tertinggi tanpa penambahan triptofan adalah isolat BP 5 dengan konsentrasi 1,18 ppm, dan isolat yang mampu menghasilkan IAA tertinggi dengan penambahan triptofan yaitu dengan isolat BP 13 dengan konsentrasi 3,90 ppm.

### 5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, disarankan untuk penelitian yang lebih lanjut pada isolat *Bacillus* sp. perlu dilakukan modifikasi media atau dapat menggunakan media yang mendukung untuk pertumbuhan isolat *Bacillus* sp. dalam memproduksi IAA seperti media Pikovskaya, supaya konsentrasi IAA yang dihasilkan *Bacillus* sp. meningkat, sehingga dapat diaplikasikan ke tanaman.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, P. R. A. 2016. Isolasi dan Identifikasi Cendawan Indigenous Rhizosfer Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) di Buluballea Kelurahan Pattappang Kecamatan Tinggimoncong Kabupaten Gowa. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar, Makassar.
- Afriani. 2010. Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* Terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam Dan Nilai pH Dadih Susu Sapi. *JIIP*. Vol. 13 (6) : 279-285.
- Agustian, Nuriyani, L. Maira dan O. Emalinda. 2010. Rhizobakteria Penghasil Fitohormon IAA pada Rhizosfer Tumbuhan Semak Karamunting, Titonia, dan Tanaman Pangan. *Jurnal Solum*, 7 (1): 49-60.
- Ahemad, M., and Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1–20.
- Ahmad, F., Ahmad, I., dan Khan, M.S. 2005. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and Fluorescent *Pseudomonas* in the Presence and Absence of Tryptophan. *Turk J Biol* 29-34.
- Akbari, G.A., S.M. Arab, H. A., Alikhani, I., Allahdadi and M.H. Arzanesh. 2007. Isolation and Selection of Indigenous Azospirillum spp. And the IAA of Superior Strains Effects on Wheat Roots. *World Journal of Agricultural Sciences* 3 (4): 523-529.
- Aini, F.N., S. Sukamto, D. Wahyuni, R.G Suhesti, dan Q. Ayyunin. 2013. Penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Pelita Perkebunan*. 29(1):44-52.

- Aisyah, A., E. Kusdiyantini, dan A. Suprihadi. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat serta Analisis Proksimat dari Pangan Fermentasi “Tempoyak”. *Jurnal Biologi*. Vol. 3 (2): 31-39.
- Arimarsetiowati, R., dan Ardiyani, F. 2012. Pengaruh Penambahan Auxin Terhadap Pertunasan dan Perakaran Kopi Arabika Perbanyak Somatic Embryogenesis. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 28(2), 82–90.
- Asril, M. 2017. uji potensi bacillus sp. dan escherichia coli dalam menghasilkan Indole Acetic Acid (IAA) tanpa menggunakan triptofan pada media pertumbuhan. *Journal of Science and Applicative Technology*. Vol. I No.2.
- Astriani, M. 2015. Seleksi Bakteri Penghasil Indole-3-Acetic Acid (IAA) dan Pengujian Pada Bibit Kelapa Sawit (*Elais guineensis* Jacq.). *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Avivi, S., I.S Suyani, S. Winarco. 2010. Efek bakteri pelarut fosfat terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada perkecambahan kacang tanah. *Jurnal HPT Tropika* 10(1): 64-72. ISSN 1411-7525.
- Cappucino, J. G., and Sherman, N. 2008. *Microbiology: A Laboratory Manual Eight Edition*. Pearson Benjamin Cummings. New York.
- Chaiharn, M., dan Lumyong, S. 2011. Screening and Optimization of *Indole-3-Acetic Acid* Production and Phosphate Solubilization from Rhizobacteria Aimed at Improving Plant Growth. *Curr Microbiol*. Vol. 62:173-181.
- Cote, C.K., Heffron, J.D., Bozue, J.A., and Welkos, S.L. 2015. *Molecular Medical Microbiology*. Volume Ketiga. Frederick, Maryland, USA: Academic Press.
- Doi, T., J. Abe, F. Shiotsu, dan S. Morita. 2011. Study on Rhizosphere Bacterial Community in Lowland Rice Grown With Organic Fertilizers by Using PCR-denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Plant Root*. 5:516.
- Dwiati, M. 2016. Peran Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan Semai Anggrek *Phalaenopsis*. *Makalah dipresentasikan pada acara Pelatihan Budidaya Anggrek di PKH Banteran*.

- Etesami, H., Alikhani, H., dan Akbari, A. 2009. Evaluation of plant growth hormones production (IAA) ability by Iranian soils rhizobial strains and effects of superior strains application on wheat growth. *World Appl Sci J*, 6(11), 1576–1584.
- Fatma, Y. S. 2014. Kemampuan Bakteri Endofit *Micrococcus endophyticus* G053 dalam Memproduksi IAA-Like Compound dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman. *Skripsi*. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Felten, J., Martin, F., and Legue, V. 2012. *Signalling in ectomycorrhizal symbiosis. Signalling and Communication in plant*. 9(2): 111-123.
- Firdausi, A. 2018. Isolasi Bakteri Rhizosfer Penghasil IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Tegakan Hutan Rakyat Suren. *Skripsi*. Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Guttenplan, S.B., Shaw, S., and Kearns, D.B. 2013. The Cell Biology of Peritrichous Flagella in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiology*. 87(1): 211-299.
- Harca, N.N., Mubarik, N.R., dan Wahyudi, A.T. 2015. Isolation and Identification of Nitrogen Fixing and Indole Acetic Acid Producing Bacteria from Oil Plantation in Jambi, Indonesia. *Journal international Application and Science*. 9(4): 546-553.
- Herlina, L., K.K. Pukan, D. Mustikaningtyas. 2016. Kajian bakteri endofit penghasil IAA (*Indole Acetic Acid*) untuk pertumbuhan tanaman. *J. Sainteknol*. 14 : 5158.
- Mawarti, I., Fibriarti, B. L., Zul, D., Roza, R. M., Martina, A., dan Linda, T. M. 2017. *Jurnal Riau Biologia*. 2: 47-54.
- Acuna, J. J., Jorquera, M. A., Martinez, O. A., Menezes-Blackburn, D., Greiner, P., and Mora, M. L. 2011. Indole acetic acid and phytase activity produced by rhizosphere bacilli as effected by pH and metals. *J Soil Sci Plant Nutrition*, vol. 11, pp.1-12.

- Jumadi, O., Liawati, dan Hartono. 2015. Produksi Zat Pengatur Tumbuh IAA (*Indole Acetic Acid*) dan kemampuan pelarutan fosfat pada isolat bakteri penambat nitrogen asal kabupaten takalar. *Jurnal Bionature*. 16(1): 43–48.
- Kholida, F.T., E. Zulaika. 2015. Potensi *Azotobacter* sebagai penghasil hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). *J. Sains Seni ITS*. 4 : 2337-3520.
- Kosim, M.S., dan R. Putra. 2010. Pengaruh Suhu pada Protease dari *Bacillus subtilis*. *Prosiding Skripsi Semester Genap 2009-2010*. Jurusan Kimia FMIPA. ITS Surabaya.
- Lehninger, A. L. 1982. *Principles of Biochemistry*. Worth Publish. New York.
- Lin, H. R., Shu, H. Y., and Lin, G. H. 2018. Biological Roles of Indole-3-Acetic Acid in *Acinetobacter baumannii*. *Microbiological Research*, 216:30–39.
- Leveau, J.H., and Lindow S.E. 2004. Utilization of plant hormone Indole-3Acetic Acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290. *American Society for Microbiology*. 1(5): 2365 - 2370.
- Ljung, K. 2013. Auxin Metabolism and Homeostasis During Plant Development, *Development*, 140 (5): 943-950.
- Madigan, M.T., J. Martinko., D.A. Stahl. and D.P. Clark. 2012. *Brock Biology of Microorganisms*. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Maritsa, H., Aini, F., Nurhakim, D.S., Sihombing, G.M., dan Saputra, A. 2017. Isolasi dan Identifikasi Cemaran Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Ayam dan Ikan Mentah. *Jurnal Bio-site*. 3(2): 47-70.
- Marista, E., Khotimah, S., dan Linda, R. 2013. Bakteri Pelarut Fosfat Hasil Isolasi dari Tiga Jenis Tanah Rizosfer Tanaman Pisang Nipah (*Musa paradisiaca* var. Nipah) di Kota Singkawang. 2. *Jurnal Protobiont*, 2 (2): 93-101.
- Munif, A dan H. Awaludin. 2011. Potensi Bakteri Endofit dan Rhizosfer dalam Meningkatkan Pertumbuhan Jagung. *Makalah* dipresentasikan pada Seminar Nasional Serealia, Institut Pertanian Bogor.

- Napitupulu, H.G., Rumega, I.F.M., Wullur, S., dkk. 2019. *Bacillus* sp. sebagai Agensia dalam Pemeliharaan *Brachionus rotundiformis* yang Menggunakan Ikan Mentah Sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*. 7(1): 158-169.
- Patil, N.B., Gajbhiye, M., Ahiwale, S.S., Gunjal, A.B., Kapadnis, B.P. 2011. "Optimization of *Indole 3-acetic acid* (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolatd from sugarcane. *Intl J Environment Sci*. 2(1): 307-314.
- Narayana, K.J., Prabhakar, P., Krishna, P.S.J., Venketeswarlu, Y., Vijayalakshmi, M. 2009. Indole -3-acetic acid by *Streptomyses albidoflavus*. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*. 11:44-55.
- Ngoma, L., Mogatlanyane, K., dan Babalola, O.O. 2014. Screening of endophityc bacteria towards the developmentof cottage industry: an in vitro study. 47(1): 45-6.
- Niswati, A., S. Yusnaini, dan M.A.S. Arif. 2008. Populasi Mikroba Pelarut Fosfat dan P Tersedia pada Rizosfer Beberapa Umur dan Jarak dari Pusat Perakaran Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Tanah Trop*, 13 (2): 123-130.
- Patkowska, E. 2002. The Role of Rhizosphere Antagonistic Microorganism in Limiting The Infection of Underground Parts of Spring Wheat. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 2 (1).
- Ouyang, J., Chen, M. and Li, J. 1999. Measurement of soluble tryptophan and total indole-3-acetic acid in *Arabidopsis* by capillary electrophoresis. *Anal. Biochem*. 271: 100-102.
- Pattern, C. L. dan B. R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol*. 68 (8): 3795-3801.
- R. Sari dan R. Prayudyaningsih. 2018. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Rahni, N.M. 2012. Efek fitohormon PGPR terhadap pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays*). *CEFARS: Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 3(2): 27-35.

- Brooks, S. A., Geo F . Butel, Janet. 2004. Morse, *Mikrobiologi Iftdokteran*, vol. 23.
- Sanjaya, A. 2022. Isolasi Bakteri Penghasil Hormon Indole-3-Acetic Acid (Iaa) dari Tanah Kebun Raya Liwa. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Sary, A. 2015. *Mikroorganisme*. <http://www.academia.edu>. diakses pada tanggal 20 Desember 2020 pukul 20.20 WIB.
- Shu, L. J. and Yang, Y.L. 2017. *Bacillus* Classification Based on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry-Effects of Culture Conditions. *Scientific Reports*. 7: 1-10.
- Silitonga, D.M., N. Priyani, I. Nurwahyuni. 2013. Isolasi dan uji potensi isolat bakteri pelarut fosfat dan bakteri penghasil hormon IAA (Indole Acetic Acid) terhadap pertumbuhan kedelai (*Glycine max* L.) pada tanah kuning. *J. Saintia Biol*. 1:35-41.
- Simatupang, D. S. 2008. Berbagai Mikroorganisme Rhizosfer pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) di Pusat Kajian Buah-buahan Tropika (PKBT) IPB Desa Ciomas, Kecamatan Pasirkuda, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen ke Gulma dan Nematoda*. Rajawali Pers. 573 p.
- Soeka, Yati Sudaryati., dan Sulistiani. 2014. Karakterisasi Protease *Bacillus Subtilis* A1 Inacc B398 yang Diisolasi dari Terasi Samarinda. *Berita Biologi* 13(2): 203-212.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., dan Remans, R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol Rev* 31: 425– 44.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., dan Okon, Y. 2009. Plant Growth-Promoting Acions of Rhizobacteria. *Adv Botl Res*, vol. 51, pp. 283-320.



- Putri, D., A. Munif, K. H. Mutaqin. 2016. Lama penyimpanan, karakterisasi fisiologi dan viabilitas bakteri endofit *Bacillus* sp. dalam formula tepung. *J. Fitopatologi Indonesia*, 12:19-26.
- Puspita, F., D. Zul, A. Khoiri. 2013. Potensi *Bacillus* sp. Asal Rizosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu sebagai Rhizobacteria Pemacu Pertumbuhan dan Antifungi pada Pembibitan Kelapa Sawit. *J. Online Mahasiswa Faperta Univ. Riau*. 2014:1-2.
- Puspita, F., Saputra, S. I., dan Merini, J. 2018. Uji Beberapa Konsentrasi Bakteri *Bacillus* sp. Endofit untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Kakao (*Theobroma cacao* L.). *J. Agron. Indonesia*, 46(3):322-327.
- Sukmadi, R. B. 2012. Aktivitas Fitohormon Indole-3-Acetic-Acid (IAA) dari Beberapa Isolat Bakteri Rhizosfer dan Endofit. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 14 (3), 221-227.
- Sukmadewi, D.K.T., Suharjono, S. Antonius. 2015. Uji potensi bakteri penghasil hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari tanah rhizosfer cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). *J. Biotropika* 3:91-94.
- Susilowati, D. N. 2015. Analisis Komunitas dan Fungsi Bakteri Rhizosfer Tanaman Padi Pada Gradien Salinitas Tanah Pesisir. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Szkop, M., and Bielawski, W. 2013. A Simple Method for Simultaneous RP-HPLC Determination of Indolic Compounds Related to Bacterial Biosynthesis of Indole-3-Acetic Acid. *Antonie Van Leeuwenhoek*. Vol. 103: 683 – 691.
- Tromas, A., dan Perrot-Rechenmann, C. 2010. *Recent progress in auxin biology*. *C R Biol*. 333:297–306.
- Dewi, T.K., Suryanggono, J., Agustiyani, D. 2016. Isolasi dan ujiaktivitas bakteri penghasil hormon tumbuh IAA (*indole-3-acetic acid*) dan bakteri perombak protein dari tanah pertanian Tual, Maluku Tenggara *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, vol 2, No.2, pp. 271-276.

Verma, J.P., Yadav J., Tiwari, K.N., Singh, L., and Singh, V. 2010. Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Crop Production. *J Agri Res.* 5(11): 954–83.

Volk, W.A., dan Wheeler, M. F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Wahyuni, D. 2016. Uji Potensi Bakteri Pelarut Fosfat dalam Memproduksi Hormon *Indole Acetic Acid* dan Uji Perkecambahan Terhadap Tanaman Cabai Merah (*Capsicum Annuum* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau. Pekanbaru.

Wiyada, Mongkolthanaruk. 2012. Classification of Bacillus Beneficial Substances Related to Plants, Humans, and Animals. *Journal of Microbiology and Biotechnology.* 22(12): 1597-1604.

Wulandari, N., Irfan, M., dan Saragih, R. 2019. Isolasi dan karakterisasi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* dari rizosfer kebun karet rakyat. *Jurnal Dinamika Pertanian Edisi Khusus.* 3(12): 57.

Yurekli, F., and Topcuoglu, H. 2003. The Synthesis of Indole-3 Acetic Acid by the Industriallyimportant Whiterot Fungus *Lentinus sajor-caju* Underdifferent Culture Conditions. *Mycol Res* 1 (07) 305–309.

Ziebart, K. T. and Toney, M. D. 2010. *Biochemistry.* 49: 2851–2859.